doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.16.001

・基础研究・ KDM2A 对人卵巢癌顺铂耐药细胞株 A2780 增殖和凋亡的影响 及机制研究 *

卢丹华 洪 莉[△] 杨 将 高利昆 曾婉玲 (武汉大学人民医院 湖北武汉 430060)

摘要目的:探讨赖氨酸脱甲基酶 2A(Lysine-specific demethylase 2A, KDM2A)对顺铂(cisplatin, DDP)耐药的人卵巢癌细胞 A2780 细胞增 殖 和调亡的影响及其可能作用机制。方法:通过构建侵病毒载体转染 A2780/DDP, 分为 A2780、A2780/DDP, A2780/DDP/KDM2A(转染 KDM2A)、A2780/DDP/Jagged1(转染 Jagged1)以及 A2780/DDP/NC(转染病毒载体)组。采用 Western blot 检测 3 组 KDM2A、Jagged1、Bcl2 和 BAX 蛋白表达, CCK8 和平板克隆形成实验检测细胞对顺铂的敏感性, 流式细胞术检测细胞 凋亡情况。结果: A2780/DDP 细胞 KDM2A 和 Jagged1 的蛋白表达水平均显著高于 A2780 细胞(P<0.05), 且 A2780/DDP/KDM2A 细胞中 KDM2A 和 Jagged1 的蛋白表达水平均显著高于 A2780 细胞(P<0.05), L A2780/DDP/KDM2A 细胞中 KDM2A 和 Jagged1 的蛋白表达水平均见著高于 A2780/DDP/NC(P<0.05); A2780/DDP/Jagged1 细胞的 Jagged1 蛋白表达低于 A2780/DDP 以及 A2780/DDP 以及 阴性对照组 A2780/DDP/NC(P<0.05); A2780/DDP/Jagged1 细胞的 素度 DDP 处理的 A2780/DDP/KDM2A 细胞的生长抑制率均显著高于 A2780/DDP/NC 和 A2780/DDP 细胞 (P<0.05), A2780/DDP/KDM2A 细胞克隆形成数量亦明显高于 A2780/DDP/NC 和 A2780/DDP/NC 和 A2780/DDP 细胞 (P<0.05), A2780/DDP/KDM2A 细胞克隆形成数量亦明显高于 A2780/DDP/NC 和 A2780/DDP/NC 细胞 [(12.46± 2.15)%](P<0.05)。 A2780/DDP/KDM2A 细胞中 Bcl-2 蛋白表达明显低于 A2780/DDP 细胞(P<0.05), 而 A2780/DDP/KDM2A 细胞 Bax 的表达水平却高于 A2780/DDP/KDM2A 细胞 Bax 的表达水平却高于 A2780/DDP/M2A 细胞 Bax 的表达水平却高于 A2780/DDP/KDM2A 细胞 Bax 的表达水平却高于 A2780/DDP/KDM2A 细胞 Bax 的表达水平却高于 A2780/DDP/M2A 细胞 Bax 的表达水平却高于 A2780/DDP/M2A 细胞 Bax 的表达水平却高于 A2780/DDP/M2A 细胞 Bax 的表达水平却高于 A2780/DDP/KDM2A 细胞 Bax 的表达水平却

关键词:卵巢癌;A2780 细胞;KDM2A;Jagged1;顺铂;耐药

中图分类号:R-33; R737.31; R730.5 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2018)16-3001-06

Effects of KDM2A on the Resistance of Human Ovarian Cancer A2780 Cells to Cisplatin and Its Mechanisms*

LU Dan-hua', HONG Li^{1/2}, YANG Jiang¹, GAO Li-kun¹, ZENG Wan-ling¹

(Renmin hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei, 430060, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of lysine emethylase 2A on the proliferation and apoptosis of human ovarian cancer A2780 cells with cisplatin resistance and its potential mechanism. **Methods:** A2780/DDP was transfected by lentivirus vector including A2780/DDP/KDM2A, A2780/DDP/Jagged1 and A2780/DDP/NC cells. The expression of KDM2A, Jagged1, Bcl2 and BAX protein in 3 groups was detected by Western blot. The sensitivity of cells to cisplatin was compared by CCK8 and plate clone assay. The flow cytometry was used to detect the apoptosis in 3 groups. **Results:** The expression levels of KDM2A and Jagged1 were significantly higher in A2780/DDP cells than those in A2780 cells. The expression levels of KDM2A and Jagged1 were significantly lower in A2780/DDP/KDM2A cells than those in A2780/DDP and A2780/DDP/NC cells (P<0.05). The expression of Jagged1 was significantly lower in A2780/DDP/Jagged1 cells than those in A2780/DDP cells(P<0.05), and the expression of KDM2A in A2780/DDP/Jagged1 cells showed no significant differences in comparison with that in A2780/DDP and A2780/DDP/NC cells (P>0.05). The inhibition rate of A2780/DDP/NC cells (P<0.05). Moreover, the cell formation clones of A2780/DDP/KDM2A cells were also higher than those of A2780/DDP/NC cells (P<0.05). The 10 µmol/L DDP induced apoptotic rate of A2780/DDP/KDM2A cells [(25.84± 3.27)%] was significantly higher than that of A2780/DDP [(14.29± 1.96)%](P<0.05) and A2780/DDP/NC cells (P<0.05), but the expression of Baz in A2780/DDP/KDM2A cells was higher than that of A2780/DDP/NC cells (P<0.05). The expression of Bcl2 in A2780/DDP/KDM2A cells was higher than that of A2780/DDP/NC cells (P<0.05), but the expression of Bax in A2780/DDP/KDM2A cells was higher than that of A2780/DDP cells (P<0.05). Conclusion: KDM2A could expression of Bax in A2780/DDP/KDM2A cells was higher than that of A2780/DDP cells (P<0.05). Conclusion: KDM2A could

^{*}基金项目:国家自然科学基金项目(81471442)

作者简介:卢丹华(1970-),硕士研究生,主要研究方向:盆底功能障碍性疾病,E-mail: 510957836@qq.com

[△] 通讯作者:洪莉(1970-),博士生导师,教授,主要研究方向:盆底功能障碍性疾病和卵巢癌,

E-mail: 510957836@qq.com,电话:13026134308

⁽收稿日期:2018-04-04 接受日期:2018-04-30)

• 3002 •

upregulate the expression of Jagged1, facilitate the proliferation, inhibited apoptosis and enhance the cisplatin sensitivity of human ovarian cancer cell line A2780.

Key words: Ovarian cancer; A2780 cells; KDM2A; Jagged1; Cisplatin; Drug resistance

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R737.31; R730.5 Document code: A Article ID: 1673-6273(2018)16-3001-06

前言

卵巢癌是女性生殖系统常见的恶性肿瘤之一,发病率居妇 科恶性肿瘤第2位^[1]。由于卵巢癌起病隐匿,病情发展迅速,病 死率居妇科恶性肿瘤首位,5年生存率仅为30%^[2]。目前,卵巢 癌的临床治疗手段主要是手术联合铂类为基础的系统化疗,但 部分晚期患者尤其是复发患者对铂类药物易产生化疗耐药。一 旦患者出现卵巢癌复发或产生耐药的情况,其中位生存时间仅 有12~24月^[3]。

化疗耐药是多因素、多水平、多基因参与的复杂过程。 Jagged1 是 Notch 信号通路的主要配体之一,其通过与相邻细胞的 Notch 胞外域结合后,形成 Notch 胞内区人核参与调控核内靶基因,影响肿瘤细胞的生物学行为^[45]。研究表明 Jagged1 通过促血管生成因子如 PDGFA 等参与调节血管形成,其高表达与高密度血管、淋巴结转移、肿瘤复发和耐药密切相关^[69]。 Chen^[10]等对乳腺癌的实验结果显示赖氨酸脱甲基酶 2A(Lysine-specific demethylase 2A,KDM2A)通过作用 Jagged 启动子 启动抗凋亡程序,阻止细胞在 G1 期发生凋亡,促进癌细胞发 生耐药反应。但 KDM2A 和 Jagged1 在人卵巢癌化疗耐药方面 尚无报道。本研究主要探讨了 KDM2A 和 Jagged1 在人卵巢癌 顺铂(cisplatin,DDP)耐药细胞株 A2780/DDP 中的作用,旨在为 临床化疗耐药治疗提供参考证据。

1 材料与方法

1.1 细胞系和细胞培养基

人卵巢癌敏感性细胞株 A2780 和顺铂耐药性细胞株 A2780/DDP(上海典型物保藏中心)以及 RPMI-1640 培养基、双抗、胎牛血清和胰蛋白酶(武汉科瑞生物技术有限公司)。

1.2 细胞培养及转染

卵巢癌细胞株 A2780 和 A2780/DDP 于含 10%胎牛血清, 10%的 RPMI1640 培养基中,5%CO₂ 条件下 37℃恒温培养箱中 培养,饱和湿度条件下连续培养 72 h。将 2.0× 10⁵/mL 的细胞接 种于 6 孔培养板培养 24 h 后,根据说明书方法转染 LV、 LV-KDM2A 和 LV-Jagged1。空白对照组以无血清 RMPI1640 培养基代替;阴性对照组转染慢病毒。

1.3 细胞增殖检测

使用 CCK8 法分析细胞活性, A2780/DDP、A2780/DDP/NC 和 A2780/DDP/KDM2A 按每孔密度 5×10³ 个/孔接种 96 孔 板,每样品设置 3 个平行浓度,加入浓度梯度 0 μmol/L、5 μmol/L、 10 μmol/L、20 μmol/L、40 μmol/L、80 μmol/L 和 160 μmol/L DDP 48 h 后,每孔加入 100 μL CCK8 溶液,酶标仪检测。

使用平板克隆形成实验,A2780/DDP/KDM2A 按密度 500 个/孔接种于培养皿,加入 10 μmol/L DDP 浓度 2 周后,75%酒 精固定 15 min,PBS 洗 3 次,0.05%结晶紫染色 10 min,PBS 洗 3次,进行投影扫描。

1.4 细胞凋亡测定

加入 DDP48 h 后,消化细胞、离心弃上清。加入 100 μL Binding buffer,同时加入 Annexin V-PE 和 7AAD,避光室温孵 育 15 min,再次加入 400 μL Binding buffer,1 h 内使用流式细 胞仪检测两组细胞凋亡率。

1.5 蛋白表达检测

采用 Western blot 方法。用 0.25%胰蛋白酶消化各组细胞, 离心收集细胞,PBS 洗涤 3 次,弃上清,用适量 PBS 重悬细胞, 加入 100 μL 蛋白提取液,冰上反应 30 min,12000 r/min 离心 10 min,采用二喹啉甲酸(BCA)试剂盒说明书提供梯度曲线法 方法测算各组细胞蛋白含量。煮沸振荡 10 min。以 GAPDH 为 内参照,KDM2A、Jagged1、Bcl2 和 BAX 抗体浓度均为 1:500。 1.6 统计学方法

应用 SPSS23.0 统计软件分析,多组间计量资料比较采用 方差分析,进一步两组间比较采用 SNK-q 检验,以 P<0.05 为差 异有统计学意义。

2 结果

2.1 KDM2A 和 Jagged1 蛋白在 A2780/DDP 和 A2780 细胞中 的表达

Western blot 结果显示: 与 A2780 细胞比较, A2780/DDP细 胞中 KDM2A 和 Jagged1 蛋白表达显著增强(*P*<0.05), 见图 1。 2.2 KDM2A 和 Jagged1 蛋白在 A2780/DDP、A2780/DDP/sh-KDM2A 和 A2780/DDP/sh-Jagged1 细胞中的表达

Western blot 结果显示:KDM2A 慢病毒载体转染 A2780/DDP细胞后,KDM2A和Jagged1表达均下降(*P<0.05*), 见图 2。Jagged1 慢病毒载体转染 A2780/DDP细胞后,Jagged1 蛋白表达下降(*P<0.05*),而 KDM2A 蛋白表达无明显变化(*P>* 0.05),见图 3。

2.3 KDM2A 对 A2780/DDP 细胞增殖的影响

CCK8 结果显示: 当 DDP 浓度为 0 μmol/L、5 μmol/L、10 μmol/L、20 μmol/L、40 μmol/L、80 μmol/L 和 160 μmol/L 时, A2780/DDP (0,11.3 ± 1.2,26.7 ± 1.4,37.7 ± 1.8,38.0 ± 1.3,41.2± 1.1,44.6± 1.4)% 和 A2780/DDP/NC 细胞(0,13.7± 1.8,27.2± 1.3,35.1± 1.5,37.3± 1.4,39.2± 1.6,42.5± 1.2)% 对 于 DDP 的 抵 抗 性 显 著 强 于 A2780/DDP/KDM2A 细 胞 (0,31.5 ± 1.4,49.5 ± 1.6,63.7 ± 1.2,69.4 ± 1.3,73.6 ± 1.5,78.0± 1.6)%,差异均有统计学意义(*P*<0.05),见图 4。平板 克隆形成实验也得到同样结果,10 μmol/L DDP 作用 2 周后, A2780/DDP/KDM2A、A2780/DDP/NC 以及 A2780/DDP 细胞克 隆形成数量分别是(404± 31)、(256± 23)、(238± 19)个。见图 5。 2.4 KDM2A 对 A2780/DDP 细胞凋亡的影响

流式细胞仪检测结果显示:A2780/DDP/KDM2A 细胞凋亡







图 2 A2780/DDP、A2780/DDP/NC 以及 A2780/DDP/KDM2A 细胞中 KDM2A 和 Jagged1 蛋白的表达情况 Fig.2 Expression of KDM2A and Jagged1 protein in A2780/DDP, A2780/DDP/NC and A2780/DDP/KDM2A cells



图 3 A2780/DDP、A2780/DDP/NC 以及 A2780/DDP/Jagged1 细胞中 Jagged1 和 KDM2A 蛋白的表达情况 Fig.3 Expression of Jagged1 and KDM2A protein in A2780/DDP, A2780/DDP/NC and A2780/DDP/Jagged1 cells



图 4 A2780/DDP、A2780/DDP/NC 以及 A2780/DDP/KDM2A 细胞对不同浓度 DDP 的抑制率 Fig.4 Inhibition rate of A2780/DDP, A2780/DDP/NC and A2780/DDP/KDM2A cells with the concentration gradient







图 6 10 µmol/L DDP 作用 A2780/DDP、A2780/DDP/NC 以及 A2780/DDP/KDM2A 细胞凋亡率 Fig.6 Apoptotic rate of A2780/DDP, A2780/DDP/NC and A2780/DDP/KDM2A cells treated with 10 µmol/L DDP



Fig.7 Expression of Bcl2 and BAX protein in A2780/DDPand A2780/DDP/KDM2A cells

率为 (25.84± 3.27)%, 明显高于 A2780/DDP 细胞 [(14.29± 1.96)%](*P*<0.05)和 A2780/DDP/NC[(12.46± 2.15)%](*P*<0.05), 见图 6。Western blot 结果显示: A2780/DDP/KDM2A 细胞中 Bcl-2 蛋白表达水平明显低于 A2780/DDP(*P*<0.05), 而 BAX 蛋 白表达则相反(*P*<0.05), 见图 7。

3 讨论

据报道,约70%上皮性卵巢癌患者初诊为FIGO III~IV期, 死亡率居妇科肿瘤首位^[2]。铂类方案全身化疗是目前大多数卵 巢癌患者无法避免的治疗手段之一,然而化疗后卵巢癌细胞引 发多机制耐药行为包括药物外排泵、抗凋亡蛋白或者 DNA 修 复增强等导致肿瘤细胞耐药性形成,是造成临床化疗失败的主 要原因之一^[11]。Notch 信号通路是通过相邻细胞上的受体相互 作用产生传递信号从而调节胚胎发育,影响组织形成和发育 ^[12]。研究显示 Notch 信号通路异常表达与肿瘤的侵袭和转移、 肿瘤血管密度增加,肿瘤干细胞形成,抗肿瘤化疗药耐药形成 等有关^[15,16]。

Jagged1 可以通过调控多种转录因子启动 Notch 信号通路 调节靶基因[13,14]。Jagged1结合Notch1能诱导上皮间质转化发 生,并且 Jagged1 和 Notch1 高表达与患者低生存率具有相关 性[17]。此外, Notch1 受体及其配体 Jagged1 与肝癌细胞的肝外 转移行为密切相关[18]。Zhang[19]等发现在舌鳞癌细胞中 Jagged1 高表达,通过慢病毒载体转染 Jagged1 基因使得癌细胞增殖明 显受抑制。Kanamori^{20]}等实验结果表明多种血液系统恶性肿瘤 中 Jagged1 和 Notch1 高表达,尤其是慢性 B 淋巴细胞性白血 病的患者中表达明显增高。Lu^[21]等发现非功能性垂体腺瘤中的 Jagged1/Notch3 信号传导通路高表达,且促进癌细胞增殖。 Twist1-Jagged1/KLF4(Kruppel-like factor 4) 信号轴可能参与调 节头颈部肿瘤细胞分化为内皮细胞的过程,且与获得性化疗耐 药的发生密切相关^[22]。人卵巢癌细胞中, Jagged1的表达水平较 其他 Notch 信号通路配体(DLL1,3,4、Jagged1)亦增高[23]。研究表 明作为 Notch 信号通路的重要配体,沉默 Jagged1 基因可通过 明显降低人卵巢癌细胞增殖活性、增强紫杉醇敏感性以及降低 肿瘤微血管密度[24]; Jagged1 在卵巢癌细胞株中高表达, 尤其在 紫杉醇耐药的癌细胞株细胞中增强程度更大,通过下调 Jagged1 基因的表达能够明显抑制卵巢癌细胞增殖并且逆转癌 细胞对紫杉醇耐药的发生^[25]。Park^[26]等研究显示 Jagged1 和受 体 Notch3 在卵巢癌中表达增高,且两者相互作用可能引起化 疗药物卡铂耐药,最终导致卵巢癌复发相关。人卵巢癌顺铂耐 药细胞株 A2780 中的 Jagged1 蛋白表达水平显著高于顺铂敏 感株 A2780 细胞,表明 Jagged1 蛋白可能通过某一因子或者机 制参与人卵巢癌细胞 A2780 DDP 耐药机制过程[27]。

研究表明 KDM2A 可特异性结合 H3K36 发挥去甲基化作 用,通过 Jagged1 基因促进乳腺癌干细胞生成和肿瘤间质微血 管形成^[10]。KDM2A 属于 KDMs 组蛋白赖氨酸去甲基化酶家 族,催化组蛋白以及相关蛋白的赖氨酸残基特异位点的去甲基 化。KDMs 被分成两种功能酶家族。一方面是包括两个成员 (KDM1A/LSD1 和 KDM1B/LSD2)的第一家族,可通过胺基氧 化反应去除组蛋白的单甲基和二甲基化的赖氨酸残基。第二家 族是通过加氧酶机制去除单甲基、二甲基和三甲基化的赖氨酸 残基。其中,第二家族去甲基化酶根据结构的相似性和序列可 被分成7种不同的亚家族(KDM2-8)。已有多项研究表明 KDM5B参与发生癌症耐药过程^[28]。Roesch等^[29]研究表明化学 药物治疗黑色素瘤后可发生高表达KDM5B低细胞周期的细 胞富集,这类型细胞被称为肿瘤干细胞,可引起多种抗肿瘤药 物耐药;在体内实验中,敲低KDM5B会增强黑色素瘤细胞对 于化疗药物的敏感性。Lin^[30]等研究结果显示在口腔鳞状细胞癌 中,下调KDM5B可抑制肿瘤细胞发生发展、干细胞特性以及 促进化疗的敏感性。有学者认为,在癌细胞中基因和表观遗传 事件执行中是相互依存的,KDM2A和KDM5B以不依赖亚型 的方式具有较高频率的基因扩增和过表达;KDM5B和 KDM2A分别在HER2+过表达型和管腔B型乳腺癌中具有较 高频率的基因扩增;KDM2A的mRNA高表达与乳腺癌患者的 较短生存期之间有显著地相关性^[31]。

生理条件下,KDM2A 是一种具有组蛋白去甲基化和 F-box 结构域的重要的赖氨酸去甲基酶,可特异性催化组蛋白 H3K36 起到去甲基化的作用,从而阻止基因转录^[32]。KDM2A 在细胞的有丝分裂中起到维持基因组稳定性和丝粒完整性[33]。 目前,KDM2A 相关实验研究亦主要集中在肺癌、胃癌以及乳 腺癌细胞发生发展以及侵袭转移等方面,而沉默 KDM2A 的表 达较上皮性卵巢良性组织高,癌细胞发生发展受到抑制[3430]。在 裸鼠模型中,KDM2A的沉默可抑制肿瘤细胞的增殖、促凋亡 以及减缓肿瘤生长¹³⁷。机体发生癌变时,原癌基因低甲基化与 卵巢癌耐药性形成以及总体预后相关^[38-40]。KDM2A 基因在肿 瘤铂类化疗耐药性的作用中鲜少报道。本研究结果显示通过构 建慢病毒载体下调 A2780/DDP 细胞 KDM2A 和 Jagged1 基因 后 A2780/DDP 细胞中的 KDM2A 和 Jagged1 的蛋白水平均明 显高于 A2780 细胞; A2780/DDP/KDM2A 细胞中 KDM2A 和 Jagged1 的蛋白水平均明显低于 A2780/DDP 和 A2780/DDP/NC 细胞; A2780/DDP/Jagged1 细胞中的 Jagged1 蛋白水平均明显低于 A2780/DDP 和 A2780/DDP/NC 细胞, 而 A2780/DDP/KDM2A、A2780/DDP和 A2780/DDP/NC 细胞中的 KDM2A 蛋白水平差异无统计学意义,表明在人卵巢癌细胞 A2780 中 Jagged1 表达水平受 KDM2A 的调控,其可能作为 KDM2A 的下游靶基因。此外,本研究结果显示 A2780/DDP/KDM2A 细胞增殖受抑制程度明显高于 A2780/DDP 和 A2780/DDP/NC 细胞,且凋亡率增加,提示下调 KDM2A 基因能够有效逆转 A2780/DDP 细胞株的耐药性,增 强化疗敏感性,而干扰 KDM2A 可下调 Jagged1 的表达,介导 人卵巢癌细胞 A2780 的增殖与凋亡,增强人卵巢癌耐药细胞 A2780 的顺铂敏感性。

与基因突变相比较,表观遗传学的改变是可以逆转的。目前,临床治疗卵巢癌还没有表观遗传药物的使用前例,但已有部分治疗其他类型的癌症药物已经得到 FDA 批准 (如 romidepsin/罗米地辛、decitabine/地西他滨和 vorinostat/伏立诺他),尤其是非实体肿瘤的治疗。因此,KDM2A 基因相关抑制剂的构成有可能成为新一代的肿瘤治疗靶向药物。

参考文献(References)

 Isobe A, Sawada K, Kinose Y, et al. Interleukin 6 receptor is an Independent prognostic factor and a potential therapeutic target of ovarian cancer[J]. Plos One, 2015, 10(2): e0118080

[2] 孙燕,石远凯. 临床肿瘤内科手册 [M].6 版. 北京人民卫生出版社, 2015: 582

Sun Yan, Shi Yuan-kai. Manual of medical oncology [M]. 6 version. People's Medical Publishing House, 2015: 582

- [3] Daly MB, Ozols RF. Symptoms of Ovarian Cancer-Where to Set the Bar? [J]. Jama the Journal of the American Medical Association, 2004, 291(22): 2705-2712
- [4] Parrsturgess CA, Rushton DJ, Parkin ET. Ectodomain shedding of the Notch ligand Jagged1 is mediated by ADAM17, but is not a lipid-raft-associated event [J]. Biochemical Journal, 2010, 432 (2): 283-294
- [5] Pedrosa AR, Trindade A, Carcalho C, et al. Endothelial Jagged1 promotes solid tumor growth through both pro-angiogenic and angiocrine functions[J]. Oncotarget, 2015, 6(27): 24404-24423
- [6] Anan K, Morisaki T, Katano M, et al. Vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor are potential angiogenic and metastatic factors in human breast cancer [J]. Surgery, 1996, 119: 333-339
- [7] Luengo-Gil G, Gonzalez-Billalabeitia E, Chaves-Benito A, et al. Effects of conventional neoadjuvant chemotherapy for breast cancer on tumor angiogenesis [J]. Breast Cancer Res Treat, 2015, 151: 577-587
- [8] Qiu XX, Wang CH, You N, et al. High Jagged1 expression is associated with poor out come in primary glioblastoma [J]. Med Oncol, 2015, 32(1): 341
- [9] Xue TC, Zou JH, Chen RX, et al. Spatial localization of the JAG1/Notch1/osteopontin cascade modulates extrahepatic metastasis hepatocellular carcinoma[J]. Int J Oncol,2014, 45(5): 1883-1890
- [10] Chen JY, Li CF, Chu PY, et al. Lysine demethylase 2A promotes stemness and angiogenesis of breast cancer by upregulating Jagged1
 [J]. Oncotarget, 2016, 7(19): 27689-27710
- [11] Kachalaki S, Ebrahimi M, Mohamed KL, et al. Cancer chemoresistance; biochemical and molecular aspects: a brief overview [J]. Eur J Pharm Sci, 2016, 89: 20-30
- [12] Takebe N, Miele L, Harris PJ, et al. Targeting Notch, Hedgehog, and Wnt pathways in cancer stem cells: Clinical update [J]. Nat Rec Clin Oncol, 2015, 12(8): 445-464
- [13] Pelullo M, Quaranta R, Talora C, et al. Notch3/Jagged1 circuitry reinforces notch signaling and sustains T-ALL [J]. Neoplasia, 2014, 16(12): 1007-1017
- [14] Kim EJ, Kim SO, Jin X, et al. Epidermal growth factor receptor variant III renders glioma cancer cells less differentiated by JAGGED1[J]. Tumour Biol, 2014, 36 (4): 2921-2928
- [15] Wang Z, Li Y, Banerjee S, et al. Emerging role of Notch in stem cells and cancer[J]. Cancer Lett, 2009, 279(1): 8-12
- [16] 张艳,张莉新. 复发性卵巢癌诊疗进展[J].中华实用诊断与治疗杂志, 2013, 27(10): 942-943
 Zhang Yan, Zhang Ju-xin. Progress of diagnosis and treatment in recurrent ovarian cancer [J]. J Chin Pract Diagn Ther, 2013, 27(10): 942-943
- [17] Leong KG, Niessen K, Kulic I, et al. Jagged1-mediated Notch activation induces epithelial-to-mesenchymal transition through

Slug-induced repression of E-cadherin[J]. J Exp Med, 2007, 204(12): 2935-2948

- [18] Xue TC, Zou JH, Chen RX, et al. Spatial localization of the JAG1/Notch1/osteopontin cascade modulates extrahepatic metastasis in hepatocellular carcinoma[J]. Int J Oncol, 2014, 45(5): 1883-1890
- [19] Zhang TH, Liu HC, Liang YJ, et al. Suppression of tongue squamous cell carcinoma growth by inhibition of Jagged1 in vitro and in vivo[J]. J Oral Pathol Med, 2013, 42(4): 322-331
- [20] Kanamori E, Itoh M, Tojo N, et al. Flow cytometric analysis of Notch1 and Jagged1 expression in normal blood cells and leukemia cells[J]. Exp Ther Med, 2012, 4(3): 397-400
- [21] Lu R, Gao H, Wang H, et al. Overexpression of the Notch3 receptor and its ligand Jagged1 in human clinically non-functioning pituitary adenomas[J]. Oncol Lett, 2013, 5(3): 845-851
- [22] Chen HF, Huang CH, Liu CJ, et al. Twist1 induces endothelial differentiation of tumour cells through the Jagged1-KLF4 axis[J]. Nat Commun, 2014, 22 (5): 4697
- [23] Choihoi JH, Park JT, Davidson B, et al. Jagged1 and Notch3 juxtacrine loop regulates ovarian tumor growth and adhesion [J]. Cancer Res, 2008, 68(14): 5716-5723
- [24] Steg AD, Katre AA, Goodman B, et al. Targeting the Notch ligand Jagged1 both tumor cells and stroma in ovarian cancer [J]. Clin Cancer Res, 2011, 17(17): 5674-5685
- [25] L6pez-Arribillaga E, Rodilla V, Colomer C, et al. Manic Fringe deficiency imposes Jagged1 addiction to intestinal tumor cells[J]. Nat Commun. 2018, 9(1): 2992
- [26] Park JT, Chen JT, Chen X, et al. Notch3 overexpression is related to the recurrence of ovarian cancer and confers resistence to carboplatin [J]. Am J Pathol, 2010, 177(3): 1087-1094
- [27] 杨将, 邢辉, 洪莉, 等. Twist1 与 Jagged1 基因在人卵巢癌 A2780 细胞顺铂耐药中的作用 [J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2017, 31 (11): 1067-1071
 - Yang Jiang, Xing Hui, Hong Li, et al. Effects of Twist1 and Jagged1 genes on the resistance of human ovarian cancer A2780 cells to cisplatin[J]. J Chin Pract Diagn Ther, 2017, 31(11): 1067-1071
- [28] Banelli B, Daga A, Forlani A, et al. Small molecules targeting histone demethylase genes (KDMs)inhibit growth of temozolomide-resistant glioblastoma cells[J]. Oncotarget, 2017, 8(21): 34896-34910
- [29] Roesch A, Fukunaga-Kalabis M, Schmidt EC, et al. Atempo rarily distinct subpopulation of slow-cycling melanoma cells is required for continuous tumor growth[J]. Cell, 2010, 141(4): 583-598
- [30] Lin CS, Lin YC, Adebayo BO, et al. Silencing JARID1B suppresses oncogenicity, stemness and increases radiation sensitivity in human oral carcinoma[J]. Cancer Lett, 2015, 368(1): 36-45
- [31] 刘辉. 综合 KDMs 的基因组和功能分析确定乳腺癌中可致癌的 KDM2A[J].吉林大学, 2015, 5: 1-79 Liu Hui. Integrated genomic and functional analyses of histone lysine demethylases (KDMs) identify oncogenic KDM2A isoform in breast cancer[J]. Jilin university, 2015, 5: 1-79
- [32] Pfau R, Tzatsos A, Kampranis SC, et al. Members of a family of JmjC domain-containing oncoproteins immortalize embryonic fibroblasts via a JmjC domain-dependent process [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(6): 1907-1912 (下转第 3011 页)

3875-3881

- [9] Gao X, Li C, Tang YL, et al. Effect of Hedyotis diffusa water extract on protecting human hepatocyte cells (LO2) from H₂O₂-induced cytotoxicity[J]. Pharm Biol, 2016, 54(7): 1148-1155
- [10] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108
- [11] Torre LA, Siegel RL, Ward EM, et al. Global Cancer Incidence and Mortality Rates and Trends--An Update [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2016, 25(1): 16-27
- [12] Chen Y, Lin Y, Li Y, et al. Total flavonoids of Hedyotis diffusa Willd inhibit inflammatory responses in LPS-activated macrophages via suppression of the NF- κ B and MAPK signaling pathways [J]. Exp Ther Med, 2016, 11(3): 1116-1122
- [13] Kang MJ, Kim JI, Yim JE. Anti-inflammatory effects of Hedyotis diffusain ob/ob mice (688.2) [J]. The FASEB Journal, 2014, 28 (1 Supplement): 688
- [14] Li P, Wang SS, Liu H, et al. Elevated serum alpha fetoprotein levels promote pathological progression of hepatocellular carcinoma [J]. World J Gastroenterol, 2011, 17(41): 4563-4571
- [15] Hu E, Wang D, Chen J, et al. Novel cyclotides from Hedyotis diffusa induce apoptosis and inhibit proliferation and migration of prostate cancer cells[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(3): 4059-4065
- [16] Zhang P, Zhang B, Gu J, et al. The Study of the Effect of Hedyotis diffusa on the Proliferation and the Apoptosis of the Cervical Tumor in Nude Mouse Model[J]. Cell Biochem Biophys, 2015, 72(3): 783-7 89
- [17] Chen R, He J, Tong X, et al. The Hedyotis diffusa Willd. (Rubiaceae): A Review on Phytochemistry, Pharmacology, Quality Control and Pharmacokinetics[J]. Molecules, 2016, 21(6). pii: E710

- [18] Lin M, Lin J, Wei L, et al. Hedyotis diffusa Willd extract inhibits HT-29 cell proliferation via cell cycle arrest[J]. Exp Ther Med, 2012, 4(2): 307-310
- [19] Lin J, Wei L, Xu W, et al. Effect of Hedyotis Diffusa Willd extract on tumor angiogenesis[J]. Mol Med Rep, 2011, 4(6): 1283-1288
- [20] Kuo YJ, Yang JS, Lu CC, et al. Ethanol extract of Hedyotis diffusa willd upregulates G0/G1 phase arrest and induces apoptosis in human leukemia cells by modulating caspase cascade signaling and altering associated genes expression was assayed by cDNA microarray [J]. Environ Toxicol, 2015, 30(10): 1162-1177
- [21] Willimott S, Barker J, Jones LA, et al. Apoptotic effect of Oldenlandia diffusa on the leukaemic cell line HL60 and human lymphocytes[J]. J Ethnopharmacol, 2007, 114(3): 290-299
- [22] Wang N, Li DY, Niu HY,et al. 2-hydroxy-3-methylanthraquinone from Hedyotis diffusa Willd induces apoptosis in human leukemic U937 cells through modulation of MAPK pathways [J].Arch Pharm Res, 2013, 36(6): 752-758
- [23] Lin J, Chen Y, Wei L, et al. Hedyotis Diffusa Willd extract induces apoptosis via activation of the mitochondrion-dependent pathway in human colon carcinoma cells[J]. Int J Oncol, 2010, 37(5): 1331-1338
- [24] Cai Q, Lin J, Wei L, et al. Hedyotis diffusa Willd inhibits colorectal cancer growth in vivo via inhibition of STAT3 signaling pathway [J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(5): 6117-6128
- [25] Zardawi SJ, O'Toole SA, Sutherland RL, et al. Dysregulation of Hedgehog, Wnt and Notch signalling pathways in breast cancer [J]. Histol Histopathol, 2009, 24(3): 385-398
- [26] Taipale J, Beachy PA. The Hedgehog and Wnt signalling pathways in cancer[J]. Nature, 2001, 411(6835): 349-354

(上接第 3006 页)

- [33] Frescas D, Guardavaccaro D, Kuchay SM, et al. KDM2A represses transcription of centromeric satellite repeats and maintains the heterochromatic state[J]. Cell Cycle, 2008, 7(22): 3539-3547
- [34] Liu H, Liu L, Holowatyj A, et al. Integrated genomic and functional analyses of histone demethylases identify oncogenic KDM2A isoform in breast cancer[J]. Molecular Carcinogenesis, 2016, 55(5): 977-99
- [35] Dhar SS, Alam H, Li N. Transcriptional repression of histone deacetylase 3 by the histone demethylase KDM2A is coupled to tumorigenicity of lung cancer cells[J]. Journal of Biological Che mistry, 2014, 289(11): 7483
- [36] Huang Y, Liu Y, Yu L, et al. Histone demethylase KDM2A promotes tumor cell growth and migration in gastric cancer[J]. Tumor Biology, 2015, 36(1): 271-278

- [37] Frescas D, Guardavaccaro D, Kuchay S M. KDM2A represses transcription of centromeric satellite repeats and maintains the heterochromatic state[J]. Cell Cycle, 2008, 7(22): 3539-3547
- [38] Honda H, Pazin MJ, Ji H, et al. Crucial roles of Sp1 and epigenetic modifications in the regulation of the CLDN4 promoter in ovarian cancer cells[J]. J Biol Chem, 2006, 281(30): 21433-21444
- [39] Lee PS, Teaberry VS, Bland AE, et al. Elevated MAL expression is accompanied by promoter hypomethylation and platinum resistance in epithelial ovarian cancer[J]. Int J Cancer, 2010, 126(6): 1378-1389
- [40] Woloszynska-Read A, James SR, Link PA, et al. DNA methylationdependent regulation of BORIS/CTCFL expression in ovarian cancer [J]. Cancer Immun, 2007, 7: 21